

Die Serumcholinesterase

Eine Gegenüberstellung zweier Bestimmungsmethoden

VON ST. SCHMIDINGER UND A. DOENICKE¹⁾

Aus der Anästhesie-Abteilung (Leiter: Priv.-Doz. Dr. A. Doenicke) der Chirurgischen Poliklinik der Universität München
(Direktor: Prof. Dr. F. Holle)

(Eingegangen am 29. November 1965)

Zur Überprüfung und Bewertung zweier Bestimmungsmethoden wurde die Serumcholinesterase (SChE)-Aktivität bei 722 Personen in Paralleluntersuchungen spektrophotometrisch nach KALOW und mit dem *Acholest*-Testpapier bestimmt. Folgende Ergebnisse wurden aufgrund statistischer Berechnungen erzielt: zwischen den Methoden nach KALOW und *Acholest* bestehen im normalen und pathologisch erniedrigten Bereich der SChE eine stetige Funktion und eine sehr gute Korrelation. — Der methodische Messfehler ist in unserem Untersuchungsgut bei der Methode nach KALOW $\pm 8,15\%$ und beim *Acholest*-Testpapier $\pm 10,20\%$. Die physiologische Streuung der SChE beträgt bei beiden Bestimmungsmethoden durchschnittlich $23,5\%$ und wird bei abnehmender Enzymaktivität bei der Methode nach KALOW kleiner, bei *Acholest* größer.

Als Übergangswert zwischen normaler und pathologisch erniedrigter Enzymaktivität im Serum ergaben sich nach KALOW $82 \Delta E \cdot 1000$ bei 26° , beim *Acholest*-Testpapier 18 Min. ($19-22^\circ$). Die Streuung um diese Übergangswerte beträgt für die erste Methode ± 18 , für die zweite $\pm 4,5$. Pathologisch erniedrigte Werte sind mit Sicherheit bei der Methode nach KALOW unter $64 \Delta E \cdot 1000$ bei 26° und beim *Acholest* über 23 Min. anzunehmen.

Die gegenseitige Abhängigkeit beider Bestimmungsmethoden ist beim Vorliegen einer atypischen Serumcholinesterase gestört. Die *Acholest*-Werte streben jedoch beim Vorliegen einer atypischen Serumcholinesterase noch mehr dem pathologischen Bereich zu als die Aktivitätswerte nach KALOW. Die genetisch bedingte atypische Enzymvariante ist somit indirekt mit dem *Acholest*-Test erfaßbar, eine Differenzierung der einzelnen genbedingten Varianten ist jedoch nicht möglich. Diese können mit der Dibucainzahl nach KALOW erfaßt werden.

The spectrophotometric method of KALOW and the *Acholest* test paper method for serum cholinesterase were tested and evaluated in parallel determinations on 722 persons. The following results were obtained on the basis of statistical calculations: For normal and for pathologically decreased levels of SChE, there is a constant function and a very good correlation between the two methods. In our determinations, the methodical error for the KALOW method is $\pm 8,15\%$ and for the *Acholest* test paper, $\pm 10,20\%$. The physiological distribution of SChE from both methods is average $23,5\%$; with decreasing enzymic activity, the KALOW method gives a higher average distribution, the *Acholest* test a lower value.

According to KALOW's test, the limiting value between normal and pathologically decreased enzymic activity in serum is $82 \Delta E \cdot 1000$ at 26° ; with *Acholest* test paper it is 18 min. ($19-22^\circ$). The scatter around this limiting value is ± 18 for the former method, and $\pm 4,5$ for the latter. Values below $64 \Delta E \cdot 1000$ at 26° (KALOW) and longer than 23 min. (*Acholest*) are an unequivocal confirmation of pathologically low SChE levels.

The reciprocal dependence of the two determination methods is destroyed by the presence of an atypical serum cholinesterase. With an atypical SChE, however, the *Acholest* values tend more to the pathological region than the KALOW values. Genetically determined atypical enzyme variation can thus be detected indirectly by the *Acholest* test. A differentiation of the individual gene-determined variants is, however, not possible. These can be characterised by the dibucain value of KALOW.

Die Bestimmung der Serumcholinesterase (Pseudo-cholinesterase, E. C. 3.1.1.8 unspezifische Cholinesterase) hat in den letzten Jahren im Rahmen der Klinik zunehmende Beachtung gefunden. Da bei der Bestimmung mit den verschiedensten Methoden gearbeitet wird und direkte Rückschlüsse oder Vergleiche der Ergebnisse im allgemeinen nicht möglich sind, erschien es uns angebracht, zwei in der Praxis bewährte, in ihrer Art verschiedene Methoden einer kritischen Prüfung zu unterziehen.

Bei der Messung der Serumcholinesterase („SChE“-Aktivität kommt dem Substrat eine besondere Bedeutung zu, zumal in zahlreichen Methoden Acetylcholin als Substrat Anwendung findet. Das Acetylcholin ist jedoch das physiologische Substrat der Acetylcholinesterase,

während Benzoylcholin und Butyrylcholin die spezifischen Substrate für die Serumcholinesterasen sind. Hiernach müßten alle Methoden, die sich als Substrat des Acetylcholins bedienen, für die SChE-Bestimmung ungenau sein. Die Ergebnisse werden besonders dann ungenau, wenn durch eine geringe Hämolyse im Blut die Acetylcholinesterase (spezifische Cholinesterase, Erythrocytenesterase, echte Cholinesterase) aus den Erythrocyten frei und hierdurch die tatsächliche Aktivität der SChE verfälscht wird.

Methodik

Aus der Vielzahl der Bestimmungsmethoden haben wir zwei Methoden gewählt. Es erschien uns wichtig, in diesem Zusammenhang eine für die Allgemeinpraxis einfache und brauchbare Methode einer für klinische und wissenschaftliche Belange erprobten Bestimmung

¹⁾ Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

gegenüberzustellen. Wir wählten den *Acholest-Test*, der unverdünntes Serum benötigt und auf dem Prinzip der pH-Verschiebung beruht, sowie die spektrophotometrische Bestimmung nach KALOW (1). Bei der letzteren wird als Substrat Benzoylcholin und ein 1:200 verdünntes Serum verwendet. Mit dieser Methode kann man durch Zusatz von Dibucain genetisch bedingte Varianten erfassen. Diese von KALOW und Mitarbeitern (2) beschriebenen Enzymvarianten haben Bedeutung für die Anästhesie bei der Verwendung von Succinylcholin als Muskelrelaxans erlangt.

Spektrophotometrische Bestimmung der Serumcholinesterase-Aktivität und der Dibucainzahl („DN“) nach KALOW

Bestimmung der SChE-Aktivität

Die SChE-Aktivität wird in dem mit $1/15$ M Phosphatpuffer (pH 7,4) 1:200 verdünnten Serum mit dem Substrat Benzoylcholin ($5 \cdot 10^{-5}$) bei 240 m μ gemessen.

Lösungsmittel

0,0667 M Phosphatpuffer, pH 7,4 (bei 25°); Herstellung: 47,213 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ und 9,078 g KH_2PO_4 in 5 l dest. Wasser.

Lösungen

I. Substrat: $2 \cdot 10^{-4}$ M Benzoylcholinchlorid (= 10^{-4} M Benzoylcholin = 2,437 mg Benzoylcholinchlorid in 100 ml Lösungsmittel).

II. Enzym: Serum (1:100) verdünnt

Testansatz: 1,0 ml Lösungsmittel +
1,0 ml Lösung I +
2,0 ml Lösung II;
T = 20–26°.

Der Test wird in Quarzküvetten (10 mm Lichtweg) bei 240 m μ im Beckman-DU-Photometer bei 20–26° durchgeführt. Die Extinktion des Enzym (Serum)-Substrat-Gemisches wird gegen die mit Phosphatpuffer 1:1 verdünnte Esteraselösung (1:100 mit Phosphatpuffer verdünntes Serum) gemessen.

Die Enzymaktivität ergibt sich aus der Extinktionsdifferenz zwischen der 1. und 4. Minute. Da die Reaktion zu einer Temperaturerhöhung führt, sollten temperierbare Küvettenhalter verwendet werden. Reaktionen zwischen 20 und 26° können auf die Reaktion bei 26° bezogen werden durch die Formel:

$$\text{antilog. } 0,0283 (t_2 - t_1) = V_2 : V_1$$

($t_2 = 26^\circ$; $t_1 = \text{Reaktionstemperatur}$; $V_2 = \Delta E$ bei 26° ; $V_1 = \Delta E$ bei t_1).

Die ΔE -Werte bei 26° werden mit dem Faktor 1000 multipliziert; die SChE-Aktivität wird in Einheiten angegeben. Unter einer Einheit versteht man demnach: $1000 \times \Delta E / 3 \text{ Min.} / 26^\circ$ unter den oben beschriebenen Standardbedingungen.

Bestimmung der Dibucain-Nummer (DN)

Die im Text zur Differenzierung der Enzymvarianten angegebene Dibucainzahl wird im photometrischen Test mit Benzoylcholinchlorid (s. o.) durch die Relation von Reaktion mit und ohne Zusatz von Dibucain bestimmt.

Lösungsmittel

0,0667 M Phosphatpuffer, pH 7,4 (bei 25°); (Zusammensetzung s. o.). Lösungen:

- I. Substrat: Benzoylcholinchlorid 2×10^{-4} M
- II. Inhibitor: Dibucain-Hydrochlorid 4×10^{-5} M
- III. Enzym: Serum 1:100

Testansatz für die Reaktion *ohne* Inhibitor:

1,0 ml Lösungsmittel +
1,0 ml Lösung I +
2,0 ml Lösung III

Testansatz für die Reaktion *mit* Inhibitor:

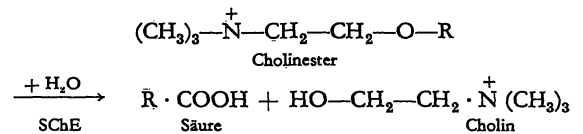
1,0 ml Lösung I +
1,0 ml Lösung II +
2,0 ml Lösung III

Bei beiden Ansätzen werden, wie oben beschrieben, die Extinktionsdifferenzen ΔE zwischen der 1. und 4. Minute bei 240 m μ gemessen. Wichtig ist, daß beide Reaktionen bei gleicher Temperatur durchgeführt werden oder die Extinktionsdifferenz ΔE auf die gleiche Temperatur umgerechnet wird. Die Dibucain-Nummer (DN) ergibt sich durch Einsetzen der gefundenen Werte in die Gleichung:

$$\text{DN} = 100 \left(1 - \frac{\Delta E \text{ mit Dibucainzusatz}}{\Delta E \text{ ohne Dibucainzusatz}} \right)$$

Testpapiermethode (*Acholest*)

Das Prinzip der Methode besteht in folgendem: Filterpapierstreifen sind mit einem Cholinester und einem Farbindikator (saures pH gelb, neutrales bzw. alkalisches pH blau) imprägniert. — Die in dem zu untersuchenden Serum enthaltene aktive Serumcholinesterase hydrolysiert das Substrat nach folgendem Schema:



Die Reaktion verläuft in quantitativer Abhängigkeit von der Fermentaktivität. Die freiwerdende Säure bewirkt eine Verschiebung des pH nach der sauren Seite und damit einen allmählichen Farbumschlag des Indikators von blau über grüne Farbtöne bis gelb. Das Zeitintervall (in Minuten) zwischen Kontakt des Serums mit dem Testpapier und dem Erreichen des grünen Farbtons des Vergleichspapiers, der einem bestimmten pH-Wert entspricht, ist ein Maß für die Serumcholinesterase-Aktivität.

Für die Durchführung des Tests werden benötigt:

ein halber *Acholest*-Reagenzstreifen (2 x 1 cm),
ein (jeder Packung beiliegender) Vergleichsfarbstreifen
sowie zwei Objektträger, eine Mikropipette (0,05 ml), eine Pinzette, eine Schere und eine Uhr.

Auf den gut gereinigten Objektträger werden genau 0,05 ml Serum aufgebracht, das in der üblichen Weise gewonnen wird (Citrat- und Oxalat-Plasma sind für den Test nicht geeignet).

Auf den Serumtropfen legt man mit einer Pinzette den halben *Acholest*-Streifen, der sofort eine dunkelblaugrüne Farbe annimmt. Gleichzeitig wird die Uhrzeit abgelesen und notiert (Beginn des Testes). Es empfiehlt sich, auf den ersten Objektträger einen zweiten zu legen und diesen mehrmals leicht anzudrücken, damit die Flüssigkeit gleichmäßig verteilt wird und Luftbläschen beseitigt werden. Mit dem Fortschreiten der enzymatischen Reaktion hellt sich der Teststreifen allmählich zu einem grünen Farbton auf. Sobald dieser mit dem des Vergleichsstreifens übereinstimmt, ist der Test beendet. Die Uhrzeit muß wieder notiert werden.

Da sich unter Umständen die Eigenfarbe des Serums, z. B. eines ikterischen, störend bemerkbar machen kann, wurde die Methode später in bezug auf den Farbvergleichsstreifen modifiziert.

Den Packungen liegt jetzt kein gedruckter Farbvergleichsstreifen mehr bei, sondern in einem besonderen Röhrchen die gleiche Anzahl besonders präparierter Vergleichsstreifen. Diese sind nicht mit dem Substrat, sondern neben dem Farbindikator mit einer Puffersubstanz imprägniert. Dieser Vergleichsstreifen wird in der gleichen Weise mit 0,05 ml Serum benetzt und nimmt bald darauf die grüne Vergleichsfarbe an. Dieser Farbton ändert sich im Verlauf der Reaktion nicht. Man muß darauf achten, daß sich die beiden Serumtropfen auf dem Objektträger nicht vermischen, trägt also den einen Tropfen auf die linke und den anderen auf die rechte Seite auf. Im übrigen verfährt man wie oben geschildert.

Auf Grund von Vergleichsuntersuchungen haben sich folgende Zeitabschnitte ergeben, die einer erhöhten, normalen, erniedrigten oder stark erniedrigten Serumcholinesterase-Aktivität entsprechen:

Minuten	Aktivität der Serumcholinesterase
unter 5	erhöht
von 6—18	normal
von 19—35	erniedrigt
über 35	stark erniedrigt

Bei der Durchführung des Testes ist folgendes zu beachten: Das Serum soll nicht hämolytisch sein; es soll möglichst bald von dem Blutkuchen abpipettiert oder abzentrifugiert werden. — Vergleichsuntersuchungen und Wiederholungsbestimmungen sollen möglichst von dem gleichen Untersucher durchgeführt werden. Ebenso ist es wichtig, auf eine stets gleichbleibende Lichtquelle zu achten. Die Raumtemperatur soll 19—22° betragen, da in diesem Temperaturbereich nach RICHTERICH (4) die geringsten Abweichungen zu beobachten sind.

Zur Erfassung des methodischen Meßfehlers wurden bei einzelnen Seren Mehrfachbestimmungen durchgeführt. Die Blutentnahme erfolgte immer mit einer großkalibrigen Kanüle nach Stauung mit einer Blutdruckmanschette.

Ergebnisse

Bei 722 Personen wurde die SChE-Aktivität jeweils mit dem von KALOW standardisierten spektrophotometrischen Test und mit dem *Acholest*-Testpapier¹⁾ bestimmt. Nach KALOW werden aufgrund der spezifischen Hemmung der SChE durch Dibucain mehrere genetisch bedingte Varianten unterschieden; sie werden in drei Gruppen des atypischen, intermediären und normalen Gentypus eingeteilt und durch die Dibucain-Zahl (DN) charakterisiert. Wir haben zusätzlich noch eine 4. Gruppe (DN von 70—74) berücksichtigt. Tabelle 1 zeigt die Anzahl und die prozentuale Aufteilung in unserem Untersuchungsgut, bei dem es sich mit wenigen Ausnahmen um Patienten handelt.

Für die vergleichende Untersuchung beider Bestimmungsmethoden wurden nur die 686 Personen mit der Dibucain-Zahl von 75—100 berücksichtigt, da die *Acholest*-Testpapiermethode eine Differenzierung der genetisch bedingten Varianten der SChE nicht erlaubt. Auf die Beziehung der genetisch bedingten Varianten zum *Acholest*-Testpapier wird später eingegangen werden.

In Abbildung 1 sind die 686 Doppelbestimmungen der SChE-Aktivität in ein Koordinatensystem eingetragen, auf der Abszisse die Werte der spektrophotometrischen Methode nach KALOW ($\Delta E \cdot 1000$ bei 26°) und auf der Ordinate die *Acholest*-Werte (in Min. bei 19—22°). Der Gesamtmittelwert der 686 Bestimmungen der SChE-Aktivität beträgt bei der Methode nach KALOW $\bar{x} = 99,45$, die Standardabweichung $s_x = \pm 37,34$, die Standardabweichung des Gesamtmittelwertes $s_{\bar{x}} = \pm 1,42$. Die entsprechenden Werte für die Testpapiermethode sind: $\bar{y} = 17,60$, $s_y = \pm 10,29$, $s_{\bar{y}} = \pm 0,39$.

¹⁾ Hersteller: Österreichische Stickstoffwerke AG. Linz/Donau, in Deutschland: Lentia-GmbH, München 15.

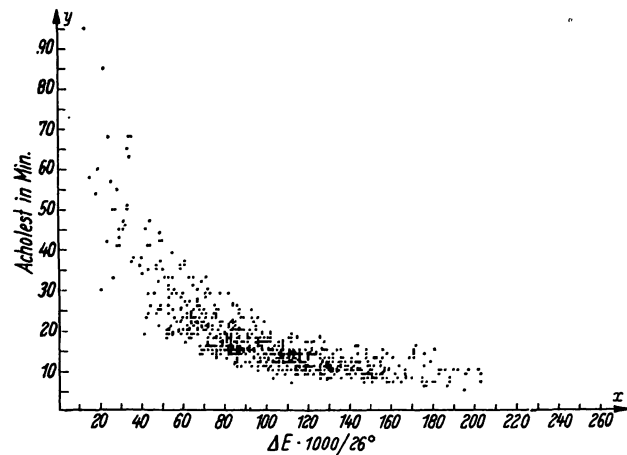


Abb. 1

Darstellung von 686 Werten der SChE-Aktivität (DN 75—100); gleichzeitige Bestimmungen mit der spektrophotometrischen Methode nach KALOW in $\Delta E \cdot 1000$ bei 26° (x-Achse) und mit dem *Acholest*-Testpapier in Minuten bei 19—22° (y-Achse)

Der prozentuale methodische Meßfehler beträgt in unserem Untersuchungsgut bei der SChE-Bestimmung nach KALOW $\pm 8,15$ und bei dem *Acholest*-Testpapier $\pm 10,20$.

Die in dem Koordinatensystem (Abb. 1) eingetragenen gemeinsamen Meßergebnisse der SChE-Aktivität gruppieren sich nicht um eine lineare Funktion, sondern scheinen sich um eine Hyperbel symmetrisch zu verteilen. Zum Beweis sollte die Funktion $y = c \cdot x^{-1}$ gefunden werden. In dem beidachsig dekadisch-logarithmischen Koordinatensystem wurden die gemeinsamen Mittelpunktswerte ($\log \bar{x}_i / \log \bar{y}_i$) von 20—160 $\Delta E \cdot 1000$ mit den dazugehörigen *Acholest*-Werten eingetragen (Abb. 2). Die ermittelte Gleichung in der Form $\log y = \log bx + \log a$ lautet: $\log y = -\log 0,9867 x + \log 3,1467$. Die Potenzierung in das dekadische System ergibt $y = 1402 x^{-0,9867}$. Die Größe des Exponenten nähert sich bis auf eine Differenz von $x^{-0,0133}$ der Gleichung der Hyperbelfunktion $y = c \cdot x^{-1}$.

Bei den beiden Methoden liegen die Bestimmungswerte als Ausdruck der Enzymaktivität im umgekehrten Verhältnis vor, d. h. bei fallender SChE-Aktivität strebt bei der spektrophotometrischen Methode der Wert gegen Null, bei der Testpapierbestimmung gegen Unendlich. Um zwei in ihrem Untersuchungsmodus verschiedene Bestimmungsmethoden der SChE-Aktivität vergleichen zu können, sollten die Werte beider Methoden, die Ausdruck der Enzymaktivität im Serum sind, in gleicher Weise gegen Null bzw. Unendlich streben.

Es wurden daher die 686 *Acholest*-Werte in ihrem reziproken Verhältnis (um ganze Zahlen zu erhalten mit 1000 multipliziert) in einem Koordinatensystem mit den nach KALOW gemessenen Werten auf der Abszisse und

Tab. 1

DN	20—35 atypisch	50—69 intermediär	70—74	75—100 normal	gesamt
Zahl der Fälle	8	13	15	686	722
In Prozent	1,11	1,80	2,07	95,02	100

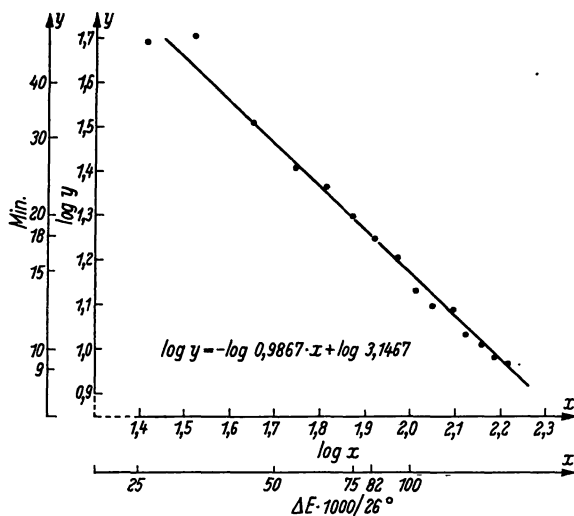


Abb. 2

Gemeinsame Mittelwertpunkte (\bar{x}_i / \bar{y}_i) der 686 Werte der SChE-Aktivität (DN 75—100) aus Abb. 1, eingetragen in das beidseitig dekadisch logarithmische System mit den Werten: $\log \Delta E \cdot 1000$ auf der x-Achse und in $\log \text{Min.}$ auf der y-Achse

den reziproken *Acholest*-Werten ($\frac{1}{\text{Min.}} \cdot 1000$) auf der Ordinate aufgetragen (Abb. 3). Schon aus dieser Darstellung ist erkennbar, daß sich die Punkte als Ausdruck unserer Bestimmungswerte um eine Gerade in der Form der linearen Funktion $y = bx \pm a$ verteilen müssen.

Zur Berechnung dieser linearen Funktionen wurde die Schätzung der Regressionsgeraden

$$Y = b_{yx} \cdot x \pm a_{yx}$$

für die zweidimensionale normal verteilte Bevölkerung und ihrer Korrelationskoeffizienten (r) verwendet. Der Korrelationskoeffizient ist ein Maß für die stochastische Abhängigkeit der beiden Variablen x und y . Sein Wert kann zwischen -1 und $+1$ variieren; beträgt er -1 oder $+1$, so sind die beiden Veränderlichen mathematisch total voneinander abhängig (*Geigy* Tabelle S. 170, 5—9).

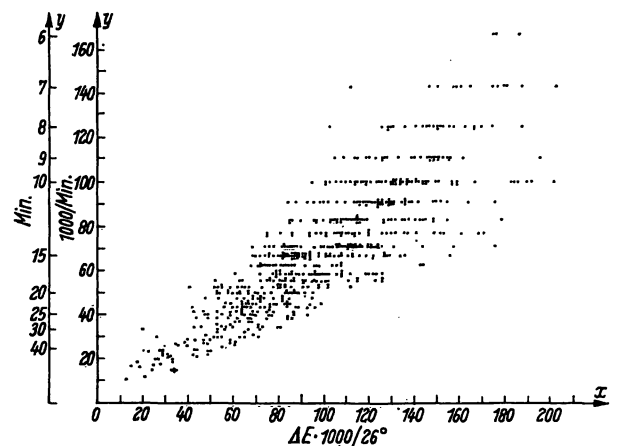


Abb. 3

Darstellung der 686 Werte der SChE-Aktivität (DN 75—100). Die Meßwerte der spektrophotometrischen Methode nach KALOW in $\Delta E \cdot 1000$ bei 26° (x-Achse) und die reziproken *Acholest*-Werte in $\frac{1}{\text{Min.}} \cdot 1000$ bei $19-22^\circ$ (y-Achse)

Als Punkte (x/y) zur Schätzung der einzelnen Regressionsgeraden Y dienen gemeinsame Mittelwertpunkte (\bar{x}_i / \bar{y}_i). Diese gemeinsamen Mittelwertpunkte wurden durch Gruppierung der unabhängigen Veränderlichen x in Spalten mit den innerhalb dieser Spalten liegenden Werte (Beobachtungen) der abhängigen Veränderlichen y ermittelt.

Die Regressionsgeraden gelten nur für eine normale bzw. symmetrische Verteilung. Deshalb wurde geprüft, ob die Einzelwerte (x_i / y_i) symmetrisch um die jeweiligen Mittelwertpunkte (\bar{x}_i / \bar{y}_i) verteilt sind. Aus den Tabellen 2a und 2b ist ersichtlich, daß für die Werte der Messung nach KALOW in dem Bereich von 137—65 ($\Delta E \cdot 1000$) und für die Werte der *Acholest*-Bestimmung von 10—32 (Min.) innerhalb der zweiseitigen 95-proz. Vertrauensgrenzen eine symmetrische Verteilung um die Mittelwertpunkte (\bar{x}_i / \bar{y}_i) besteht.

Im Laufe unserer Untersuchungszeit wurde der *Acholest*-Test — wie unter Methodik angegeben — von der

Tab. 2a: Prüfung auf Symmetrie, die Mediane und ihre Signifikanzgrenzen einzelner Werte (spektrophotometrische Methode)

	I	II	III	IV	V
Werte nach KALOW (\bar{x}_i)	137	118	96	77	65
Anzahl (m_i) d. gruppierten Einzelwerte (x_i)	58	47	35	26	12
95-proz. zweiseitige Vertrauensgrenzen für N_p ($p = 0,5$) $2\alpha = 0,05$	130—139	108—119	86—101	64—83	53—71
Q (0,5) Median- oder Zentralwert	134	115	96	80	64
Forderung: Mittelwert = Medianwert innerhalb der 95-proz. zweiseitigen Vertrauensgrenze	erfüllt	erfüllt	erfüllt	erfüllt	erfüllt
Standardabweichung um den Mittelwert (\bar{x}_i) = s_{x_i}	$\pm 24,05$	$\pm 20,07$	$\pm 15,66$	$\pm 18,41$	$\pm 12,66$
Zweiseitige Signifikanzschranken 2 P = 2α ($\alpha = 0,025$) für Q (0,5)	$\pm 47,14$	$\pm 38,93$	$\pm 30,69$	$\pm 36,08$	$\pm 24,81$
x_L	87	76	65	44	39
x_r	181	154	127	116	89
Methodischer Meßfehler Δc (8,15%)	$\pm 11,17$	$\pm 9,62$	$\pm 7,82$	$\pm 6,28$	$\pm 5,30$
Zweiseitige Signifikanzschranken 2 P = 2α ($\alpha = 0,025$) für Q (0,5) unter Berücksichtigung des methodischen Meßfehlers	$\pm 25,24$	$\pm 20,07$	$\pm 15,36$	$\pm 23,77$	$\pm 14,42$
x_L	109	95	81	57	50
x_r	159	135	111	104	78

Tab. 2b. Prüfung auf Symmetrie, die Mediane und ihre Signifikanzgrenzen einzelner *Acholest*-Werte

	I	II	III	IV
<i>Acholest</i> -Werte (\bar{y}_i)	32	20	16	10
Anzahl (m_i) der gruppierten Einzelwerte (y_i)	23	63	59	35
95-proz. zweiseitige Vertrauensgrenzen für Np ($p = 0,5$) $2\alpha = 0,05$	25—38	17—21	15—17	9—11
Q (0,5) Median- oder Zentralwert	34	20	16	10
Forderung: Mittelwert = Medianwert innerhalb der 95-proz. zweiseitigen Vertrauensgrenze	erfüllt	erfüllt	erfüllt	erfüllt
Standardabweichung um den Mittelwert (\bar{y}_i) = s_{y_i}	$\pm 8,46$	$\pm 4,69$	$\pm 3,29$	$\pm 3,29$
Zweiseitige Signifikanzschränken $2P = 2\alpha$ ($\alpha = 0,025$) für Q (0,5)	$\pm 16,9$	$\pm 9,2$	$\pm 6,5$	$\pm 4,3$
YL	17	11	9,5	6
Yr	51	29	22,5	14
Methodischer Meßfehler Δc (10,20%)	$\pm 3,26$	$\pm 2,04$	$\pm 1,63$	$\pm 1,02$
Zweiseitige Signifikanzschränken $2P = 2\alpha$ ($\alpha = 0,025$) für Q (0,5) unter Berücksichtigung des methodischen Meßfehlers	$\pm 10,19$	$\pm 5,19$	$\pm 3,25$	$\pm 2,27$
YL	24	15	13	8
Yr	44	25	19	12

Herstellerfirma modifiziert. Aus diesem Grunde wurden getrennt diejenigen Regressionsgeraden und ihre Korrelationskoeffizienten bestimmt, die die Beziehung der Methode nach KALOW einmal zum *alten* *Acholest* (A) und zweitens zum *neuen* *Acholest* (B) darstellen. Mit dem alten *Acholest*-Testpapier (A) wurden 496 und mit dem neuen (B) 190 Doppelbestimmungen der SChE-Aktivität gleichzeitig mit der Methode nach KALOW durchgeführt. Das lineare Verhältnis der reziproken Werte beider *Acholest*-Methoden (A und B) zu den Bestimmungswerten der spektrophotometrischen Methode nach KALOW zeigen die Regressionsgeraden I und II (Abb. 4 u. 5).

Für sämtliche 686 Doppelbestimmungen gilt die Regressionsgerade III (Abb. 6). Der Korrelationskoeffizient der Einzelwerte x_i/y_i um die Regressionsgerade III ist $r = 0,79$.

Wie in Abbildung 7 zu sehen ist, haben die Regressionsgeraden I, II und III einen gemeinsamen Schnittpunkt.

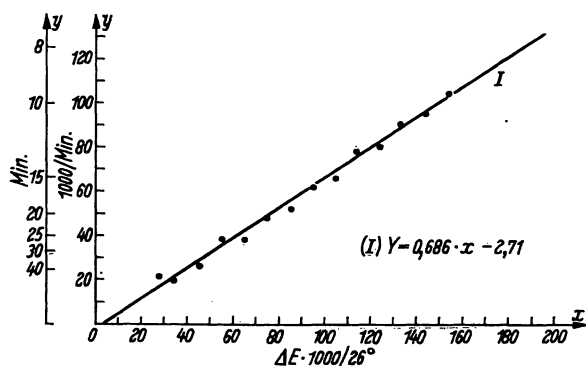


Abb. 4

Gemeinsame Mittelwertspunkte (\bar{x}_i / \bar{y}_i) von 190 Messungen der SChE-Aktivität (DN 75—100), gleichzeitig bestimmt mit der spektrophotometrischen Methode nach KALOW in $\Delta E \cdot 1000$ bei 26° (x-Achse) und mit dem neuen *Acholest*-Testpapier (B) in $\frac{1}{\text{Min.}} \cdot 1000$ bei $19-22^\circ$ (y-Achse) und ihrer Regressionsgeraden Y (I).

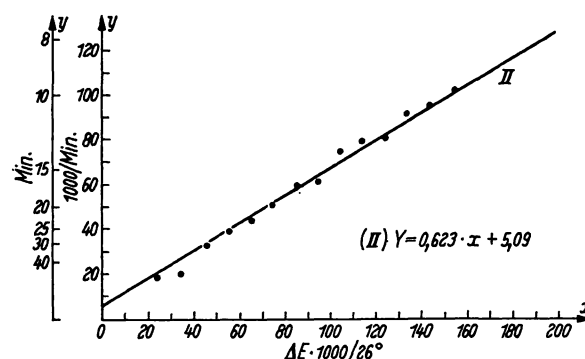


Abb. 5

Gemeinsame Mittelwertspunkte (\bar{x}_i / \bar{y}_i) von 496 Messungen der SChE-Aktivität (DN 75—100), gleichzeitig bestimmt mit der spektrophotometrischen Methode nach KALOW in $\Delta E \cdot 1000$ bei 26° (x-Achse) und mit dem alten *Acholest*-Testpapier (A) in $\frac{1}{\text{Min.}} \cdot 1000$ bei $19-22^\circ$ (y-Achse) und ihrer Regressionsgeraden Y (II).

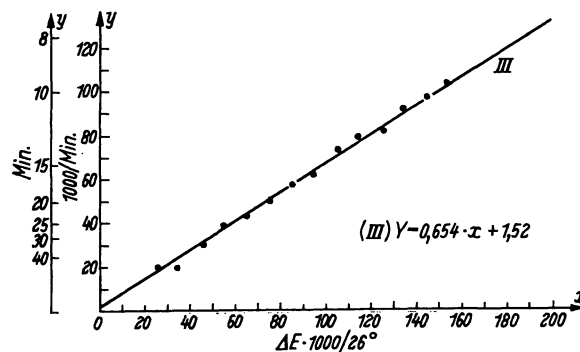


Abb. 6

Gemeinsame Mittelwertspunkte (\bar{x}_i / \bar{y}_i) von 686 Messungen der SChE-Aktivität (DN 75—100) aus der Abb. 3, die Werte der spektrophotometrischen Methode nach KALOW in $\Delta E \cdot 1000$ bei 26° (x-Achse) und die Werte des alten (A) und neuen (B) *Acholest*-Testpapiers in $\frac{1}{\text{Min.}} \cdot 1000$ bei $19-22^\circ$ (y-Achse), und ihrer Regressionsgeraden Y (III).

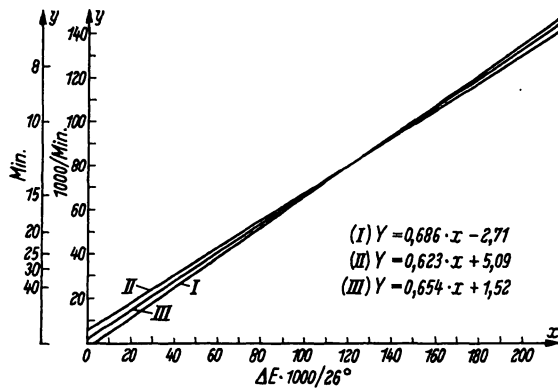


Abb. 7

Darstellung der 3 Regressionsgeraden I, II und III aus den Abbildungen 4, 5 und 6

Die durchschnittliche Mittelwertstreuung der Regressionsgeraden III beträgt $(s_{\bar{y}_i}) \pm 2,1 \left(\frac{1}{\text{Min.}} \cdot 1000 \right)$. In dem Bereich $\Delta E \cdot 1000 / \frac{1}{\text{Min.}} \cdot 1000$ von 50/34 und 190/126 liegen die Regressionsgeraden I und II innerhalb der Mittelwertstreuung der Regressionsgeraden III. Auf Grund dieser Ergebnisse besteht kein grundsätzlicher Unterschied zwischen der alten und der modifizierten *Acholest*-Methode; für unsere Beurteilung können daher alle 686 Werte gemeinsam betrachtet werden. Die Regressionsgeraden I, II und III sind Ausdruck der Beziehung des *Acholest*-Testpapiers zu der spektrophotometrischen Bestimmung der SchE-Aktivität. Die umgekehrte Beziehung beinhaltet die Regressionsgerade

$$X = 1,148 y + 18,95; y = 0,839 x - 13,67 \text{ (IV); } r = 0,980.$$

(Abb. 8). — Diese wurde ebenfalls aus gemeinsamen Mittelwertpunkten (\bar{x}_i / \bar{y}_i) berechnet, die sich durch Gruppierung der einzelnen reziproken *Acholest*-Werte $\left(\frac{1}{\text{Min.}} \cdot 1000 \right)$ in Spalten mit den innerhalb dieser Spalten liegenden Werte der spektrophotometrischen Methode ergaben (Abb. 8).

Es erschien wichtig, einen für beide Methoden gemeinsamen Wert als Übergang von normaler zu pathologisch erniedrigter SchE-Aktivität zu finden, da Grenzwerte für eine vergleichende Untersuchung in der Klinik unerlässlich sind. Dieser Übergangswert liegt in dem Schnittpunkt der Regressionsgeraden III und IV (Abb. 9). Der Schnittpunkt hat die Ordination $x = 82,15$ ($\Delta E \cdot 1000$ bei 26°) und $y = 55,25 \left(\frac{1}{\text{Min.}} \cdot 1000 \right)$.

Somit beträgt der Übergangswert in unserem Untersuchungsgut für die spektrophotometrische Methode nach KALOW 82 ($\Delta E \cdot 1000$ bei 26°) und für den *Acholest*-Testpapierstreifen 18 (Min. bei $19-22^\circ$). Diese beiden Werte müssen als Übergangswerte von normaler zu pathologisch erniedrigter SchE-Aktivität für alle weiteren klinischen Vergleichsuntersuchungen mit beiden Methoden Anwendung finden.

Die Streuung der Meßergebnisse ist bei beiden Methoden relativ groß. Bei der Methode nach KALOW wird die Streuung mit abnehmender SchE-Aktivität kleiner, bei

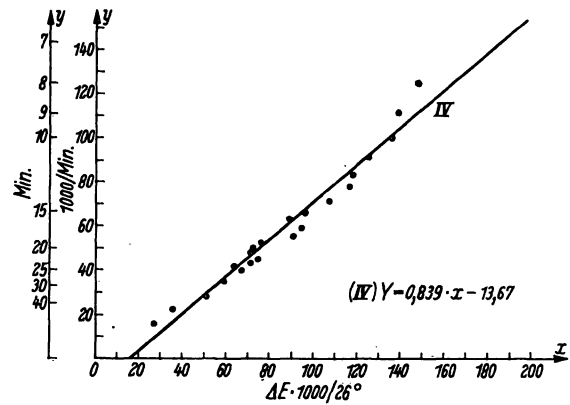


Abb. 8

Gemeinsame Mittelpunktswerte (\bar{y}_i / \bar{x}_i) der 686 Bestimmungen der SchE-Aktivität (DN 75—100), ermittelt durch Gruppierung der einzelnen Werte (x_i) der Methode nach KALOW auf der x-Achse zu den einzelnen Werten des *Acholest*-Testpapiers (y_i) auf der y-Achse und ihrer Regressionsgeraden IV.

$\Delta E \cdot 1000$ bei 26° auf der x-Achse; $\frac{1}{\text{Min.}} \cdot 1000$ bei $19-22^\circ$ auf der y-Achse

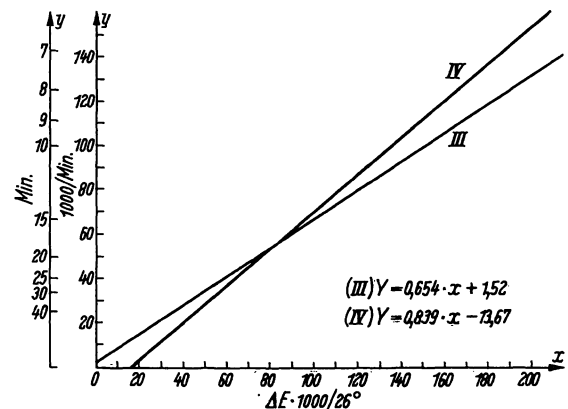


Abb. 9

Darstellung der Regressionsgeraden III und IV. Der Schnittpunkt beider Geraden entspricht den im Text angegebenen Grenzwerten für beide Methoden beim Übergang von normaler zu pathologisch erniedrigter SchE-Aktivität

dem *Acholest*-Test größer. Von besonderem Interesse sind die zu erwartenden Schwankungen beim Übergang von normaler zu pathologisch erniedrigter SchE-Aktivität, die abhängig sind von den methodischen Meßfehlern und der biologischen Schwankungsbreite der Serumcholinesterase in der Bevölkerung. In den Tabellen 2a und 2b sind die Standardabweichungen und die Streuungen innerhalb der zweiseitigen 95-proz. Grenzen für einige gemeinsame Mittelwerte beider Methoden angegeben. Wird der methodische Meßfehler durch Mehrfachbestimmungen eliminiert, ergeben sich Schwankungen der SchE-Aktivität in unserem Untersuchungsgut beim Übergang von normaler zu pathologisch erniedrigter Aktivität bei 82 ($\Delta E \cdot 1000$) bis zu $\pm 18,1$ und bei 18 (Min.) bis zu $\pm 4,55$. Sichere pathologisch erniedrigte Werte sind demnach bei der photometrischen Methode unter 64 und bei dem *Acholest*-Testpapier über 23 Min. anzunehmen. In dem Intervall bei der Methode nach KALOW von 100 bis 64 und beim *Acholest* von 14 bis 23 besteht eine relative Unsicherheit in der

Beurteilung einer pathologisch erniedrigten SchE-Aktivität.

Im Schrifttum wurden die Werte der spektrophotometrischen Methode oft für 37° angegeben. Die entsprechenden Werte sind dann: Übergangswert 140 (Einheiten), die Streuung um diesen Übergangswert $\pm 31,5$; eine sichere pathologisch erniedrigte SchE-Aktivität ist unter 111,5 Einheiten anzunehmen.

Die biologische Schwankungsbreite der SchE beträgt in unserem untersuchten Personenkreis bei der SchE-Bestimmung nach KALOW 22 % und bei dem *Acholest*-Testpapier 25 %.

Die genetisch bedingten SchE-Varianten müssen, wie schon eingangs erwähnt, gesondert untersucht werden, da der *Acholest*-Test eine Differenzierung nicht ermöglicht. Die Verteilung der genetisch bedingten Varianten zeigt Abbildung 10. Aus dieser Abbildung ist zu sehen, daß sich die genetisch bedingten Varianten nicht symmetrisch um die Regressionsgerade III verteilen; die Werte der atypischen Serumcholinesterase liegen zu 100 %, der intermediären zu 69,2 % und die mit der Dibucainzahl von 70–74 zu 73,4 % unterhalb der Regressionsgeraden III. Die geringe Anzahl der erfaßten genetisch bedingten Varianten mit der vorhandenen

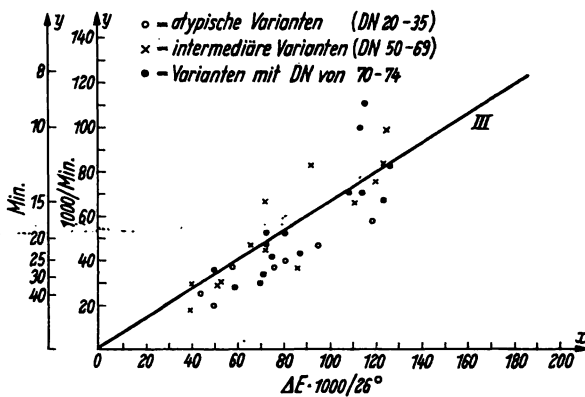


Abb. 10

Verteilung der genetisch bedingten SchE-Varianten um die Regressionsgerade III.

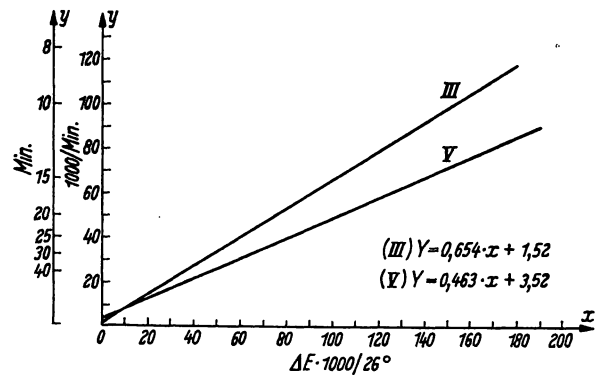


Abb. 11

Darstellung der Regressionsgeraden III, entsprechend dem normalen Gentypus der SchE, und der Regressionsgeraden V, ermittelt aus 8 Werten der atypischen SchE-Variante, die gleichzeitig mit der Methode nach KALOW (auf der x-Achse in $\Delta E \cdot 1000$ bei 26°) und dem *Acholest*-Testpapier (in $\frac{1}{\text{Min.}} \cdot 1000$ bei 19–22° auf der y-Achse) gemessen wurden

Streuung läßt eine Korrelation auf Grund statistischer Berechnungen insbesondere der Intermediären und der mit der Dibucainzahl 70 bis 74 nicht zu. Bei der einheitlichen Verteilung und Tendenz der atypischen Serumcholinesterase erschien es uns berechtigt, eine orientierende Regressionsgerade (V) aufzustellen (Abb. 11).

Unsere errechneten Korrelationskoeffizienten zeigen eine sehr gute Übereinstimmung der Bestimmung der Serumcholinesteraseaktivität durch beide Methoden. In Tabelle 3 sind sämtliche von uns errechneten Regressionsgeraden und ihre Korrelationskoeffizienten zusammengestellt.

Diskussion

In der Literatur finden sich nur wenige Angaben über die physiologische Schwankungsbreite der SchE-Aktivität. KALOW (1) gab diese mit dem Substrat Benzoyl-

Tab. 3: Zusammenstellung der Regressionsgeraden, der Regressionskoeffizienten und der Korrelationskoeffizienten

Abb.	Spaltenmittelwerte (\bar{x}_i)			Beobachtungsmittelwerte (\bar{y}_i) in den Spalten			Regressionskoeffizient (b_{yx})	Regressionsgeraden $Y = b_{yx}x \pm a_{yx}$	Korrelationskoeffizient r_{yx}
	Methode	Dimension	Ordinate	Methode	Dimension	Ordinate			
4	KALOW	$\Delta E \cdot 1000$ bei 26°	x-Achse	neu <i>Acholest</i> (B)	$\frac{1}{\text{Min.}} \cdot 1000$	y-Achse	0,686	$Y = 0,686x - 2,71$ (I)	0,994
5	KALOW	$\Delta E \cdot 1000$ bei 26°	x-Achse	alt <i>Acholest</i> (A)	$\frac{1}{\text{Min.}} \cdot 1000$	y-Achse	0,623	$Y = 0,623x + 5,09$ (II)	0,937
6	KALOW	$\Delta E \cdot 1000$ bei 26°	x-Achse	ges. <i>Acholest</i> A+B	$\frac{1}{\text{Min.}} \cdot 1000$	y-Achse	0,654	$Y = 0,654x + 1,52$ (III)	0,997
8	ges. <i>Acholest</i> A+B	$\frac{1}{\text{Min.}} \cdot 1000$	y-Achse		$\Delta E \cdot 1000$ bei 26°	x-Achse	0,839	$Y = 0,839x - 13,67$ (IV)	0,980
9	KALOW	$\Delta E \cdot 1000$ bei 26°	x-Achse	ges. <i>Acholest</i>	$\frac{1}{\text{Min.}} \cdot 1000$	y-Achse	0,654 0,839	$Y = 0,654x + 1,52$ (III) $Y = 0,839x - 13,67$ (IV)	0,997 0,980
11	KALOW DN 75–100 20–35	$\Delta E \cdot 1000$ bei 26°	x-Achse	<i>Acholest</i>	$\frac{1}{\text{Min.}} \cdot 1000$	y-Achse	0,654 0,463	$Y = 0,654x + 1,52$ (III) $Y = 0,463x + 3,52$ (V)	0,997 0,598

cholin von 110 bis 300 Einheiten bei 37° an. Bei dem *Acholest*-Test sind normale Werte bis 18 Min. anzunehmen (SAILER und BRAUNSTEINER (3), RICHTERICH (4) von 5–19 Min., CHURCHILL-DAVIDSON und GRIFFITHS (5) von 12–20 Min.). — Die wenigen Angaben sind auch noch dadurch erschwert, daß kaum Gegenüberstellungen verschiedener Methoden erfolgten und somit Vergleiche sowohl im normalen physiologischen als auch im pathologischen Bereich fehlen. Von den Gegenüberstellungen zweier Bestimmungsmethoden werden einige, nämlich die Methoden nach AMMON (6), nach MICHEL (7), nach GLICK (8) sowie nach KALOW (1, 9), die die Autoren jeweils mit der einfachen *Acholest*-Testpapiermethode verglichen, angeführt.

JABSA und Mitarbeiter (9) stellten die SChE-Aktivität, gemessen mit dem *Acholest*-Test, der manometrischen Methode nach AMMON (6) gegenüber, bei der 0,1 ml Serum bei 37° und als Substrat Acetylcholinchlorid von $2,2 \cdot 10^{-2} M$ verwendet werden. Die Autoren kommen unter der Annahme, der Fehler der manometrischen Methode sei praktisch gleich Null, zu folgenden Ergebnissen: „Die Fehlerbreite der Testpapiermethode ist relativ groß. Dieser Nachteil fällt bei SChE-Aktivitäten über $100 \mu l CO_2/20 \text{ Min.}/0,1 \text{ ml Serum}$, also im Bereich normaler Aktivität, und *Acholest*-Werten bis zu 17 Min. weniger ins Gewicht. Im Bereich von 40 bis $80 \mu l CO_2/20 \text{ Min.}/0,1 \text{ ml Serum}$, dem z. B. für die Indikationsstellung chirurgischer Eingriffe bei Lebererkrankungen eine besondere Bedeutung zukommt, halten es die Autoren allerdings für notwendig, die orientierende Angabe der Testpapier-Methode durch eine manometrische Bestimmung zu kontrollieren.“

Auch die Methoden nach MICHEL (10) und GLICK (8) verwenden als Substrat Acetylcholin. Sowohl LANG und Mitarbeiter (7) mit der potentiometrischen Methode nach GLICK (8) als auch CHURCHILL-DAVIDSON und Mitarbeiter (5) mit der titrimetrischen Methode geben in den wesentlichen Bereichen eine deutliche Übereinstimmung der Werte an.

Ein Vergleich — *Acholest*-Test zu den verschiedenen Methoden, wie sie die obengenannten Autoren vorgenommen haben — mit Methoden, die Acetylcholin als Substrat benutzen, muß mit Fehlern behaftet sein, besonders wenn eine geringe Hämolyse vorliegt, d. h. wenn aus den Erythrocyten zusätzlich Acetylcholinesterase frei wird. So sind auch in der Gegenüberstellung von LANG und Mitarbeitern (7) die Differenzen bis zu 15% bei stark pathologisch erniedrigter SChE-Aktivität erklärbar, denn einmal kann mit der Methode nach GLICK (Substrat Acetylcholin) auch die Acetylcholinesterase erfaßt werden und zum anderen wird mit dem *Acholest*-Testpapier mit größter Wahrscheinlichkeit nur die SChE bestimmt. Auch soll nach PILZ und HÖRLEIN (11) im Serum eine Acetylcholinesterase vorliegen, die nach elektrophoretischer Auftrennung (Stärkegel) zwischen der Albumin- und α_1 -Globulin-Fraktion lokalisiert wurde.

Wie aus einer privaten Mitteilung der Herstellerfirma von *Acholest* hervorgeht, ist die Konzentration des uns

unbekannten Substrates auf dem Filtrierpapier so gewählt, daß eine Spaltung des Substrates fast ausschließlich von der SChE erfolgt. Die Firma ging dabei von der Tatsache aus, daß die Acetylcholinesterase durch hohe Konzentrationen ihres uns unbekannten Substrates gehemmt wird. Dabei erscheint es uns problematisch, mit einem Substratüberschuß einerseits die Acetylcholinesterase in nicht meßbarer Form sicher zu hemmen, andererseits aber eine alleinige Bestimmung der SChE-Aktivität zu gewährleisten. — In der Gegenüberstellung der beiden Methoden muß als wesentlichster Unterschied hervorgehoben werden, daß bei der spektrophotometrischen Methode nach KALOW mit genau definierten und meßbaren Größen, beim *Acholest*-Test aber mit unbekanntem Substrat und unbekannter Substratmenge die SChE-Aktivität gemessen wird.

Trotz dieser Vorbehalte konnten wir in unserer Gegenüberstellung und statistischen Berechnung an 686 Paralleluntersuchungen Ergebnisse erzielen, die den aus der Literatur bekannten (7, 9) nicht ganz entsprechen. Unsere errechneten Regressionsgeraden und Korrelationskoeffizienten zeigen eine sehr gute Übereinstimmung der Bestimmung der SChE-Aktivität in dem normalen und in dem pathologisch erniedrigten Bereich durch beide Methoden. Die Festsetzung des Übergangswertes von normaler zu pathologisch erniedrigter SChE-Aktivität, sowohl bei der Methode nach KALOW als auch bei der Testpapier-Methode, wurde bisher mit statistischen Berechnungen und der in diesem Bereich liegenden Streuungen nicht durchgeführt. Diese Übergangswerte müssen für die Klinik als bindend angesehen werden, und finden in einer klinischen Untersuchung (12) eine besondere Berücksichtigung.

Die genetisch bedingten Varianten nach KALOW verlangten aus den erwähnten methodischen Möglichkeiten des *Acholest*-Tests einen getrennten Vergleich der SChE-Varianten zum entsprechenden Wert des *Acholest*-Tests. Diese in Tabelle 1 aufgeführten 21 Fälle entsprechen, insbesondere wenn die 8 atypischen SChE-Varianten mit dem relativ hohen Prozentsatz von 1,11 berücksichtigt werden, nicht den in der Literatur angegebenen Daten; denn zu unserem Untersuchungskollektiv kamen zusätzlich zwei Familien mit mehreren atypischen und intermediären Serumcholinesterasen (DOENICKE und Mitarbeiter 1962 [13], STEINBEREITHNER 1964 [14]). Somit entspricht die prozentuale Verteilung der genetischen Varianten in Tabelle 1 nicht einer repräsentativen Prozentangabe einer normalen Population. KALOW gibt für die Bevölkerung in Kanada für die atypische Cholinesterase ein Verhältnis von 1:2800 an. Im Sinne der statistischen Normalverteilung entfallen dann auf unsere 704 Paralleluntersuchungen (abzüglich der 18 SChE-Doppelbestimmungen in obengenannten beiden Familien) eine Person mit atypischer und 6 Personen mit intermediärer SChE, in Prozenten sind das 0,141 für die atypische und 0,84 für die intermediäre Serumcholinesterase-Variante. Abbildung 10 zeigt, daß sich unter Vorbehalt der geringen Anzahl der Bestimmungen die entsprechenden Werte nicht gleichmäßig

um die Regressionsgerade III (normaler Gentypus) verteilen. Die aus den gemessenen Werten der atypischen SchE errechnete Regressionsgerade V ist signifikant gegen die Regressionsgerade III verschieden (Abb. 11).

Bei der atypischen SchE ist die parallel mit dem *Acholest*-Testpapier gemessene Aktivität deutlich tiefer gegenüber dem Normaltypus.

Literatur

1. KALOW, W. und H. A. LINDSAY, *Canad. J. Biochem. Physiol.* 33, 568 (1955). — 2. KALOW, W. und K. GENEST, *Canad. J. Biochem. Physiol.* 35, 339 (1957). — 3. SAILER, S. und H. BRAUNSTEINER, *Klin. Wschr.* 37, 986 (1959). — 4. RICHTERICH, R., *Schweiz. med. Wschr.* 92, 263 (1962). — 5. CHURCHILL-DAVIDSON, H. C. und W. J. GRIFFITHS, *Brit. Med. J.* 74, 994 (1961). — 6. AMMON, R., *Pflügers Arch. ges. Physiol. Menschen Tiere* 233, 486 (1933). — 7. LANG, W. und G. INTSESULOGLU, *Klin. Wschr.* 40, 312 (1962). — 8. GLICK, D., *J. biol. Chemistry* 137, 357 (1941). — 9. JABSA, Z., M. SCHÖNFELDER und H. BREUER, *Klin. Wschr.* 39, 966 (1961). — 10. MICHEL, H. O., *J. Laborat. Clin. Med., S. Louis* 34, 1564 (1949). — 11. PILZ, W. und H. HÖRLEIN, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* 339 157 (1964). — 12. DOENICKE, A. und St. SCHMIDINGER, *Med. Klinik*, 60, 2012 (1965). — 13. DOENICKE, A., Th. GÜRTNER, J. REMES, W. SPIESS, K. STEINBEREITHNER und E. VONKILCH, *Wien, Proc. II* 191 (1962); 106. Colloquium über Narkose und Anästhesie Hamburg 23. 1. 1963. — 14. STEINBEREITHNER, K., *Wien. klin. Wschr.* 76, 785 (1964).

Priv.-Doz. Dr. A. Doenicke
Chirurg. Univ.-Poliklinik
8 München 15, Pettenkoferstr. 8a

Beeinflussung der Erythrozyten-Sedimentationsrate und der enzymatischen Neuraminsäure-Abspaltung durch Zusatz eines kleinmolekularen Glykoproteids

Herrn Professor H. PLÜGGE zum 60. Geburtstag gewidmet

Von H. WEICKER und D. KUHN¹⁾

Aus der Abteilung für Stoffwechselforschung (Leiter: Prof. H. Weicker) der Medizinischen Universitäts-Poliklinik Heidelberg (Direktor: Prof. H. Plügge)

(Eingegangen am 22. Januar 1966)

Die Beeinflussung der Erythrozyten-Sedimentationsrate durch ein neuraminsäurereiches, kleinmolekulares Glykoprotein ging der Konzentration des zugesetzten Glykoproteids direkt parallel. Seine chemischen und physikalischen Eigenschaften entsprechen denjenigen eines kleinmolekularen α_1 -Serum-Glykoproteids. Nach schonender enzymatischer Abspaltung der Erythrozyten-Neuraminsäure mit Neuraminidase wurde dieser Effekt noch verstärkt; wurde die Glykoprotein-Neuraminsäure vor Zusatz zu dem Plasma-Blut enzymatisch abgespalten und die nicht entfernbare Neuraminidase durch Hitze inaktiviert, dann war der Anstieg der Sedimentationsrate etwas geringer. Hingegen war bei nicht hitzeinaktiviertem Glykoprotein nach Neuraminidase-Behandlung die Senkungszunahme noch ausgeprägter. Durch diesen Glykoprotein-Komplex wurde die Virus-Haemagglutination total gehemmt. Wurde anstelle eines Glykoproteids ein Glykolipid (Gangliosid) zugesetzt, dann war nach Abspaltung der Neuraminsäure kein senkungsbeschleunigender Effekt mehr festzustellen. Wurde das Plasmavolumen bei konstanter Protein-Konzentration vergrößert, trat eine Erhöhung der Sedimentationsrate ein. Nach Einengen des Plasmas war der senkungsbeschleunigende Effekt bei glykoproteinreichem Plasma größer als bei Normalplasma oder Plasma mit γ -Globulin-Vermehrung. Die Zunahme des Erythrozytenvolumens, wie es bei Eindickung oder Polyglobulie vorliegt, verminderte die Sedimentationsrate durch relative Verminderung der negativen Plasmaladung pro Erythrozyt. Hydrämien mit Reduktion der Proteinkonzentration im Plasma lösten ebenfalls eine Verminderung der Blutsenkungsgeschwindigkeit aus. Enzymatischer Release der Erythrozyten-Neuraminsäure zeigte bei schonender Inkubation mit Neuraminidase eine Steigerung der Erythrozyten-Agglomeration. Bei komplettem Neuraminsäure-Release hingegen fehlte die Erythrozyten-Agglomeration. Der enzymatische Neuraminsäure-Release lag zwischen 80—90 μg pro ml gepackte Erythrozyten.

The change in the sedimentation rate of erythrocytes is directly proportional to the concentration of a low molecular weight glycoprotein, which is rich in neuramic acid. Its chemical and physical properties correspond to those of a small molecular weight α_1 -serum glycoprotein. After the mild enzymic removal of the erythrocyte neuramic acid with neuraminidase, this effect was intensified. If the neuramic acid of the glycoprotein was removed enzymically and the non-removable neuraminidase inactivated by heating prior to the addition to the serum, then the increase in the sedimentation rate was somewhat lower. When the heat inactivation was omitted, however, the increase in sedimentation was more marked. Virus haemagglutination was totally inhibited by this glycoprotein complex. If the glycoprotein were replaced by a glycolipid (ganglioside), then, after, removal of the neuramic acid, there was no longer any acceleration of sedimentation. An increase in plasma volume with constant protein concentration resulted in an increase in the sedimentation rate. After reducing the plasma volume, the sedimentation accelerating effect was larger in plasma rich in glycoprotein than in normal plasma or plasma with increased γ -globulin. The increase of the erythrocyte volume, as in inspissation or polyglobulism, decreased the rate of sedimentation by relatively decreasing the negative plasma charge per erythrocyte. Hydræmia with reduction of the plasma protein concentration also caused a decrease in the rate of erythrocyte sedimentation. The enzymic release of the erythrocyte neuramic acid when carefully incubated with neuraminidase was accompanied by an increase in erythrocyte agglomeration. The complete release of neuramic acid, however, gave no erythrocyte agglomeration. The enzymic release of neuramic acid was 80—90 μg per ml. of packed erythrocytes.

¹⁾ Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.